

依托泊苷长循环亚微乳的制备和理化性质研究

李华龙¹, 尹东东², 王杏林²

1. 天津市药品检验所, 天津 300070

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 制备依托泊苷长循环亚微乳, 并对其理化性质进行研究。**方法** 在依托泊苷亚微乳处方的基础上, 通过考察乳粒表面固有水化层厚度与聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (PEG 2000-DSPE) 用量的关系, 确定 PEG 2000-DSPE 用量, 从而确定了依托泊苷长循环亚微乳的处方和制备工艺, 并进行了理化性质研究。**结果** 依托泊苷长循环亚微乳的浓度为 0.8 mg/mL, 平均粒径为 (185.4 ± 5.7) nm, Zeta 电位为 (-51.6 ± 0.8) mV, 药物包封率为 97.52%。**结论** 得到了包封率在 95% 以上的依托泊苷浓度为 0.8 mg/mL 的依托泊苷长循环亚微乳的处方和制备工艺。

关键词: 依托泊苷长循环亚微乳; 依托泊苷; 长循环亚微乳; 聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (PEG 2000-DSPE)

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)02-0164-06

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2013.02.015

Preparation and physico-chemical properties of etoposide long circulating submicroemulsion

LI Hua-long¹, YIN Dong-dong², WANG Xing-lin²

1. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To prepare etoposide long circulating submicroemulsion (ELCSE) and to study its physico-chemical properties.

Methods Based on the formulation of etoposide submicroemulsion, the quantity of PEG 2000-DSPE was decided by studying the relationship between the fixed aqueous layer thickness (FALT) of emulsion drop surface and the quantity of PEG 2000-DSPE. Then the ELCSE formulation and the preparing technique were decided, and the physico-chemical properties were studied. **Results** The concentration of etoposide was 0.8 mg/mL. The mean particle size, Zeta potential, and encapsulation efficiency of ELCSE were (185.4 ± 5.7) nm, (-51.6 ± 0.8) mV, and 97.52%, respectively. **Conclusion** The ELCSE formulation and preparing technique with etoposide concentration of 0.8 mg/mL and encapsulation efficiency over 95% are obtained.

Key words: etoposide long circulating submicroemulsion; etoposide; long circulating submicroemulsion; PEG 2000-DSPE

依托泊苷临床上主要用于小细胞肺癌、恶性淋巴瘤, 其水溶性和脂溶性都很差, 且在水溶液中快速降解。目前国内外上市的依托泊苷非水溶液注射剂, 静脉给药前, 先用生理盐水稀释至 0.25~0.5 mg/mL, 易形成细微沉淀, 注射血管处引起较强的局部刺激^[1]。文献报道^[2], 乳粒的表面采用柔顺亲水的聚乙二醇 (PEG) 链覆盖, 增强亲水性, 减少血浆蛋白与其相互作用的几率, 降低被单核吞噬细胞系统吞噬, 延长体循环时间, 以增加疗效。将依

托泊苷制成 0.8 mg/mL 的长循环亚微乳, 不经稀释直接静脉给药, 降低药物的刺激性和毒副作用, 同时延长药物的血液循环时间以提高疗效。长循环乳剂的乳粒表面亲水性的 PEG 链上具有很多亲水位点, 可吸附大量水分子形成一层水分子的空间位阻, 成为固有水化层。Shimada 等^[3]研究了固有水化层厚度与 PEG 浓度的关系, PEG 浓度增加, 固有水化层厚度增加, 循环时间增加。本实验在依托泊苷亚微乳处方和制备工艺的基础上, 通过测定乳粒表

收稿日期: 2012-11-09

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2010CB735602, 2012CB724002)

*通信作者 王杏林, 女, 研究员, 主要从事药物制剂和质量分析方向的研究。Tel: (022)23006885 E-mail: wangxl@tjipr.com

面固有水化层厚度, 确定聚乙二醇 2000-磷脂酰乙醇胺 (PEG 2000-DSPE) 用量, 确定了依托泊苷长循环亚微乳的处方和制备工艺, 并进行了理化性质研究。

1 仪器与材料

LabAlliance 高效液相色谱仪 (美国 Lab Alliance), TGL—16GB 高速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂), FJ200—S 数显高速剪切仪 (上海标本模型厂), M—110L 高压微射流纳米均质机 (美国 MFIC), XG—0.36 型旋转水浴式灭菌柜 (张家港市神农药机有限公司), Mettler Toledo FE20 台式 pH 计 (瑞士 Mettler Toledo), Nano ZS90 Malvern 粒径测定仪 (英国马尔文), 500 μ L 超滤浓缩离心管 (德国 Sartorius), NDJ—1 型旋转黏度计 (上海地学仪器研究所)。

依托泊苷 (上海现代制药股份有限公司, 批号 0704001, 质量分数 99.8%), 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司)、大豆油 (注射级, 铁岭北亚药用油有限公司), 中链甘油三酯 (MCT)、大豆卵磷脂、PEG 2000-DSPE、油酸 (注射级, 德国 Lipoid), 甘油 (注射级, 浙江遂昌惠康药业), 氯化钠、乙酸钠、冰醋酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠 (分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 物理稳定性评价方法

2.1.1 稳定性参数 (K_e) 的测定 采用离心—分光光度法作为乳剂物理稳定性的快速评价方法, 计算乳剂的 K_e 。取乳剂样品 10 mL 装入特制离心管中, 以 500 r/min 离心 5 min, 从底部准确放出 2 mL 于另一小烧杯中, 摇匀, 准确吸取 0.1 mL 置 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度。以蒸馏水作空白, 在 500 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。同法测定未经离心的乳剂的吸光度 A_0 , 计算乳剂的 K_e 。 K_e 值越小, 说明分散油滴在离心力作用下上浮或下沉的

越少, 此乳剂越稳定。

$$K_e = |A_0 - A| / A_0 \times 100\%$$

A_0 为离心前乳剂稀释液在某一波长处的吸光度值, A 为离心后离心管下层乳剂的稀释液在同一波长处的吸光度值

2.1.2 离心稳定性的考察 载药乳在 4 000 r/min 转速下离心 15 min, 观察离心管底部有无药物析出, 乳剂有无分层或出现油滴。

2.2 依托泊苷亚微乳的处方筛选

2.2.1 混合油相的选择 根据临床使用的中长链脂肪乳的油相配比方式, 将大豆油和 MCT 按 1:1 混合作为油相。为提高药物在油相中的分布, 选择油相用量为 20%。

2.2.2 磷脂及其用量的选择 分别选用蛋黄卵磷脂、大豆卵磷脂制备载药乳, 以 K_e 和离心稳定性为评价指标考察乳剂的物理稳定性, 结果见表 1。可见采用大豆卵磷脂制备的载药乳剂物理稳定性好, 因此选择大豆卵磷脂作为乳化剂, 用量选择 1.8%。

表 1 磷脂及其用量的筛选结果

Table 1 Screening of phospholipid and its quantities

磷脂种类	磷脂用量/%	K_e /%	离心稳定性
蛋黄卵磷脂	1.2	6.13	有药物析出
蛋黄卵磷脂	1.8	4.87	有药物析出
大豆卵磷脂	1.2	4.65	有药物析出
大豆卵磷脂	1.5	4.41	无药物析出
大豆卵磷脂	1.8	4.27	无药物析出

2.2.3 助乳化剂及其用量的选择 依托泊苷在水、油中溶解度均很小, 为非双亲性药物, 但在乳剂中药物应分布在油相和油水界面膜上, 因此为获得稳定的载药乳剂, 考虑加入可静脉注射使用的助乳化剂, 并考察乳剂的稳定性, 结果见表 2。选择 K_e 值相对较小且 10 d 稳定性较好的油酸作为助乳化剂, 用量选择 0.05%。

表 2 助乳化剂及其用量的筛选结果

Table 2 Screening of assistant emulsifier and its quantities

助乳化剂	助乳化剂用量/%	K_e /%	离心稳定性	10 d 稳定性
聚山梨酯 80	0.1	4.53	无明显变化	出现分层
聚山梨酯 80	0.2	4.29	无明显变化	出现分层
胆固醇	0.2	4.38	无明显变化	出现分层
油酸	0.05	4.26	无明显变化	均匀白色乳剂
油酸	0.1	4.21	无明显变化	均匀白色乳剂
去氧胆酸	0.05	4.34	无明显变化	均匀白色乳剂

2.3 依托泊苷亚微乳的初乳制备工艺优化

2.3.1 剪切速率的考察 在 70 ℃水浴的条件下, 以 7 000、9 000、12 000、15 000、18 000 r/min 不同的剪切转速各剪切 20 min 制备初乳, 初乳的 K_e 分别为 6.04%、5.39%、4.92%、4.53%、4.46%。可见剪切转速在 15 000 r/min 以上时, K_e 已经无明显变化, 因此选用 15 000 r/min 作为制备初乳时的剪切转速。

2.3.2 乳化温度的考察 分别在 30、50、60、70 ℃水浴下, 以 15 000 r/min 剪切 20 min, 制备初乳, K_e 分别为 6.21%、5.35%、4.63%、4.55%。由于亚微乳对热稳定性差, 乳化温度不宜过高, 所以制备初乳时, 乳化温度在 60~70 ℃较为合理。

2.4 依托泊苷亚微乳的终乳制备工艺优化

2.4.1 微射流乳化压力的考察 将初乳分别在 40、60、80、100 MPa 乳匀压力下乳匀 3 次, 制备的乳

剂测定平均粒径分别为 391.5、304.7、273.2、269.3 nm。可见乳匀压力在 80 MPa 以上时, 升高压力对乳滴粒径减小的影响不明显, 所以选择 80 MPa 乳匀压力。

2.4.2 微射流乳化次数的考察 在 70 ℃水浴下, 以 15 000 r/min 剪切转速剪切 20 min 后得初乳, 将初乳在 80 MPa 下分别乳匀 1、3、5、7 次, 制备的乳剂的平均粒径分别为 356.1、289.6、273.8、268.0 nm。可见乳匀次数为 5 次以上时, 乳滴的平均粒径已无明显变化, 因此选择乳匀 5 次。

2.5 依托泊苷亚微乳的 pH 值和灭菌条件的选择

依托泊苷水溶液不稳定与 pH 值有关, 在 pH 值 < 3 和 pH 值 > 7.5 时均不稳定。本研究比较了两个灭菌条件 (100 ℃灭菌和 121 ℃热压灭菌) 对不同 pH 值的载药乳剂的影响, 见表 3。结果表明, 灭菌前后 pH 值变化不大, 但药物质量分数随着 pH 值的升高有明显下降。

表 3 不同 pH 值和灭菌条件对 pH 值和质量分数的影响

Table 3 Effects of different pH value and sterile conditions on pH value and content

灭菌前 pH 值	灭菌后 (100 ℃, 30 min)		灭菌后 (121 ℃, 20 min)	
	pH 值	质量分数/%	pH 值	质量分数/%
4.3	4.3	99.6	4.4	90.2
5.2	5.1	89.3	5.2	75.4
5.6	5.7	73.5	5.7	39.7
6.0	5.9	54.6	6.0	22.8

脂肪乳剂灭菌条件通常为 121 ℃热压灭菌 15 min (F_0 值为 15), 属于过度杀灭法灭菌, 考虑本品对热不稳定, 在优选的 pH 值条件下, 考察不同灭菌时间对乳剂稳定性影响, 见表 4。在保证 F_0 值不小于 8 的条件下, 选用灭菌时间为 10 min。

表 4 灭菌时长对依托泊苷亚微乳 pH 值、质量分数和平均粒径的影响

Table 4 Effects of sterile time on pH value, content and mean particle size

灭菌时间/min	pH 值	质量分数/%	平均粒径/nm
0	4.3	100.0	208.1
8	4.3	99.1	210.4
10	4.3	98.7	210.7
12	4.4	98.2	213.6
15	4.4	97.3	211.3

2.6 依托泊苷亚微乳的制备工艺

通过上述试验, 确定了依托泊苷亚微乳的处方

和制备工艺: 将 0.08 g 依托泊苷加入含有 0.05 g 油酸和 1.8 g 大豆卵磷脂的 10 g 大豆油和 10 g MCT 组成的混合油中, 70 ℃水浴中高速剪切溶解, 得到油相; 将甘油加入 70 mL 注射用水中溶解, 调节 pH 值为 4.5 作为水相; 在 70 ℃水浴加热条件下, 将油相缓慢加入水相, 边加边搅拌, 15 000 r/min 剪切 20 min, 得到初乳, 调 pH 值约 4.3, 补足注射用水至 100 mL; 在微射流仪 80 MPa 压力下乳匀 5 次, 灌装, 通氮气, 熔封, 121 ℃旋转热压灭菌 10 min, 得到含依托泊苷为 0.8 mg/mL 的依托泊苷亚微乳。

制备的依托泊苷亚微乳的 K_e 为 4.08%, 离心稳定性试验显示无药物沉淀析出、无分层、无油滴。

2.7 依托泊苷长循环亚微乳的制备工艺优化

在依托泊苷亚微乳处方和制备工艺的基础上, 进行依托泊苷长循环亚微乳的处方筛选。在长循环亚微乳中起长循环作用的辅料为 PEG 2000-DSPE, 所以主要对 PEG 2000-DSPE 的用量进行筛选, 制备

工艺采用依托泊苷亚微乳的制备工艺。

2.7.1 PEG 2000-DSPE 用量的选择 按照 100 mL 的制备量,保持依托泊苷 0.08 g、大豆油 10 g、MCT 10 g、甘油 2.25 g 和油酸 0.05 g 的量不变,按照表 5 中的大豆卵磷脂和 PEG 2000-DSPE 的处方量,将依托泊苷加入含有油酸、大豆磷脂和 PEG 2000-DSPE 的混合油相中,超声溶解,将甘油加入 70 mL 注射用水中溶解作为水相,在 70 ℃水浴中,将油相加入水相,边加边搅拌,15 000 r/min 剪切 20 min,得到初乳,调 pH 值约 4.3,补足注射用水至 100 mL,在微射流仪 80 MPa 压力下乳匀 5 遍,灌装,通氮气,熔封,121 ℃旋转热压灭菌 10 min,得到终乳。

2.7.2 水化层厚度的测定 将含有不同浓度 PEG 2000-DSPE 的依托泊苷乳剂,分别用 0、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1 mol/L 氯化钠水溶液稀释,在马尔

表 5 PEG2000-DSPE 用量的筛选

Table 5 Screening of PEG 2000-DSPE quantity

组 分	处方量/g					
大豆卵磷脂	1.80	1.70	1.60	1.50	1.40	1.35
PEG 2000-DSPE	0	0.10	0.20	0.30	0.40	0.45

文粒径和电位测定仪上测定其 Zeta 电位,根据 Gouy-Capmann 理论,Zeta 电位 ζ 表达为 $\ln|\zeta|=\ln A-kI=\ln A-(\sqrt{C}/0.3)\times I$ 。其中 A 为常数, k 为 Debye-Huckel 参数, C 为单价电解质溶液的浓度, I 为固有水化层厚度 (nm),用 $\ln|\zeta|$ 对 $\sqrt{C}/0.3$ 进行线性回归,所得回归直线的斜率即为 I (nm),即为依托泊苷长循环亚微乳的水化层厚度^[3]。

依托泊苷亚微乳与不同 PEG 2000-DSPE 浓度的依托泊苷长循环亚微乳在不同浓度的氯化钠电解质溶液中的 Zeta 电位测定结果见表 6。

表 6 不同浓度氯化钠溶液中依托泊苷长循环亚微乳 Zeta 电位测定结果 ($n=5$)

Table 6 Zeta potential of etoposide long circulating submicroemulsion in in sodium chloride solutions at different concentration ($n=5$)

NaCl 浓度/(mol·L ⁻¹)	不同 PEG 2000-DSPE 浓度时的 Zeta 电位/mV					
	0.00%	0.10%	0.20%	0.30%	0.40%	0.45%
0	-59.7±0.8	-53.5±1.5	-58.5±2.0	-52.2±2.1	-51.6±0.8	-51.6±1.3
0.005	-48.4±0.6	-44.6±1.1	-41.5±1.1	-38.6±1.2	-32.0±1.2	-35.2±0.8
0.01	-45.6±0.5	-31.6±0.8	-29.5±1.0	-28.0±0.6	-26.1±0.5	-28.0±0.6
0.02	-29.6±1.0	-27.0±0.6	-22.8±0.7	-21.5±0.3	-20.1±1.0	-18.0±1.0
0.05	-22.0±1.1	-13.7±0.7	-11.6±0.7	-9.55±0.93	-8.90±0.49	-9.19±0.45
0.1	-13.3±1.3	-9.33±1.01	-7.60±0.64	-6.69±0.44	-5.74±0.50	-5.47±0.47

$\ln|\zeta|$ 对 $\sqrt{C}/0.3$ 进行线性回归,得回归方程,结果如下: $Y(0.00\%)=-1.4826X+4.1776$, $R^2=0.9760$; $Y(0.10\%)=-1.7805X+4.0723$, $R^2=0.9775$; $Y(0.20\%)=-2.0330X+4.0931$, $R^2=0.9878$; $Y(0.30\%)=-2.1010X+4.0221$, $R^2=0.9781$; $Y(0.40\%)=-2.1687X+3.9607$, $R^2=0.9895$; $Y(0.45\%)=-2.2411X+4.0015$, $R^2=0.9899$ 。

可见 PEG 2000-DSPE 比例为 0、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%、0.45% 的依托泊苷长循环亚微乳的水化层厚度分别为 1.48、1.78、2.03、2.10、2.17、2.24 nm。PEG 2000-DSPE 浓度为 0.40%、0.45% 的 $\ln|\zeta|$ 对 $\sqrt{C}/0.3$ 的线性回归曲线基本重合,当 PEG 2000-DSPE 浓度达 0.40% 时,再增加用量,水化层厚度增加不明显,所以选择 PEG 2000-DSPE 的用量

为 0.40%。

2.8 依托泊苷长循环亚微乳的制备工艺

将 80 mg 依托泊苷加入含有 50 mg 油酸、1.4 g 大豆卵磷脂和 0.4 g PEG 2000-DSPE 的 10 g 大豆油和 10 g MCT 组成的混合油中,70 ℃水浴中高速剪切溶解,得到油相;将甘油加入 70 mL 注射用水中溶解,调节 pH 值为 4.5 作为水相;在 70 ℃水浴加热条件下,将油相缓慢加入水相,边加边搅拌,15 000 r/min 剪切 20 min,得到初乳,调 pH 值约 4.3,补足注射用水至 100 mL;在微射流仪 80 MPa 压力下乳匀 5 次,灌装,通氮气,熔封,121 ℃旋转热压灭菌 10 min,得到依托泊苷长循环亚微乳。

制备得到的依托泊苷长循环亚微乳的 K_e 为 4.11%,离心稳定性试验显示无药物沉淀析出、无

分层、无油滴。

2.9 理化性质研究

2.9.1 黏度、粒径和 Zeta 电位的测定 用 NDJ—1 型旋转黏度计测定依托泊苷长循环亚微乳在 25 °C 时的黏度, 结果为 6.0 mPa·s。将依托泊苷长循环亚微乳用去离子水稀释 2 000 倍, 测定, 结果平均粒径为 (185.4 ± 5.7) nm, 多分散系数为 0.076 ± 0.036 , Zeta 电位为 (-51.6 ± 0.8) mV。

2.9.2 依托泊苷的测定 采用 HPLC 法测定, 外标法计算。

色谱条件为: 采用 Intertsil Ph-3 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 - pH 4.0 醋酸盐缓冲液 (32:68) 为流动相, 进样 20 μL, 在 40 °C 以 1.0 mL/min 进行洗脱, 在 224 nm 波长处进行检测。

精密量取 2.0 mL 依托泊苷长循环亚微乳于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声 5 min, 经 10 000 r/min 离心 15 min, 取上清液作为供试品溶液。

精密称取依托泊苷对照品适量, 用甲醇溶解并稀释成 64 μg/mL 对照品溶液。

依托泊苷质量浓度在 21.1~158.0 μg/mL 时峰面积与质量浓度呈良好的线性关系 ($r=0.9999$); 溶剂甲醇和辅料不干扰测定; 重复性试验的 RSD 值为 0.52% ($n=9$); 供试液在 8 h 内稳定; 平均回收率为 99.81%, RSD 值为 0.67% ($n=9$)。

结果表明, 依托泊苷长循环亚微乳中依托泊苷的质量浓度为 0.81 μg/mL。

2.9.3 包封率的测定 采用离心超滤法^[4]。取依托泊苷长循环亚微乳 0.5 mL, 加入截留相对分子质量为 5 000 的超滤离心管中, 置离心机中以 5 000 r/min 离心 15 min, 重复操作 4 次, 合并离心套管外管中的清液, 直接注入 HPLC 仪, 测定水相中的药物质量浓度。亚微乳为 O/W 型, 其中油相占 20%, 水相占 80%。计算包封率 (ER), 结果依托泊苷长循环亚微乳的包封率为 97.52%。

$$ER = (1 - 0.8 C_{\text{水}} / C_{\text{总}})$$

$C_{\text{水}}$ 为水相中药物质量浓度, $C_{\text{总}}$ 为长循环亚微乳中总的药物质量浓度

2.9.4 体外释放度测定 采用总体液平衡反向透析法测定。考虑到亚微乳的静脉给药方式, 采用与血浆 pH 值接近的 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 (取磷酸二氢钾 1.36 g, 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 79 mL, 用水稀释至 200 mL, 即得) 为释放介质。照《中国药典》

2010 年版二部附录 X C 溶出度测定法第二法 (浆法)。取 900 mL 释放介质置溶出杯中, 转速 50 r/min, 温度 37 °C, 将 7 个大小形状相同, 内含 2 mL 释放介质的透析袋完全浸入释放介质中, 平衡 2 h。精密吸取托泊苷长循环亚微乳 5 mL, 加至释放介质中。分别于 0.25、0.5、1、2、4、6、8 h 各取出一个透析袋, 取出袋内溶液, 用 HPLC 法测定袋内介质中的药物质量浓度。待 7 个透析袋都取出后, 取溶出杯中溶液, 同法测定杯中介质中的药物质量浓度, 作为药物从依托泊苷长循环亚微乳中完全释放后介质中的药物总质量浓度。结果见图 1。可见在 2 h 时释放达 80% 以上, 在 8 h 时基本达到完全释放。

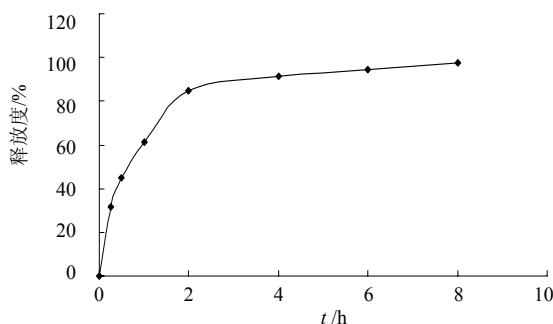


图 1 依托泊苷长循环亚微乳在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中的释放曲线

Fig. 1 Releasing curve of etoposide long circulating submicroemulsion in phosphate buffer solution (pH 7.4)

2.10 稳定性考察

依托泊苷长循环亚微乳经 $(4\ 500 \pm 500)$ lx 放置 10 d 后, 外观、平均粒径、多分散系数、Zeta 电位和包封率无明显变化, 依托泊苷的质量分数下降 4.9%, pH 值下降 0.2; 依托泊苷长循环亚微乳经 40 °C 放置 10 d 后, 外观、平均粒径、多分散系数、Zeta 电位和包封率无明显变化, 依托泊苷的质量分数下降 3.0%, pH 值下降 0.2。依托泊苷长循环亚微乳经 (25 ± 2) °C 遮光保存 3 个月, 外观、平均粒径、多分散系数、Zeta 电位和包封率无明显变化, 依托泊苷的质量分数下降 5.3%, pH 值下降 0.4。说明依托泊苷长循环亚微乳需要遮光冷藏保存。依托泊苷长循环亚微乳经 (6 ± 2) °C 遮光保存 12 个月, 各项观察指标均无明显变化。

3 讨论

处方中加入脂溶性的助乳化剂油酸, 增加了药物和大豆卵磷脂在油相中的溶解度, 使药物分散更

均匀,更多分布在油相和油水界面膜上。同时油酸带有负电荷,减少乳粒凝聚,增加了乳剂稳定性。

对长循环亚微乳处方筛选的方法很少有报道,本实验在普通依托泊苷亚微乳处方和制备工艺的基础上,通过考察乳粒表面水化层厚度与 PEG 2000-DSPE 用量的关系,确定了 PEG 2000-DSPE 的用量。

脂肪乳的 pH 值一般选择在 7~8,但依托泊苷在碱性条件下会异构化为顺式内酯,在酸性条件下容易被氧化。相比之下,酸性条件下的氧化可以通过充氮避免。考察了不同 pH 值依托泊苷的灭菌耐受性后发现, pH 值在 4.3~4.6 的乳剂稳定性较好。因此,乳剂灭菌前的 pH 值需要调至 4.3~4.6。

在《中国药典》2010 年版二部“依托泊苷”中,依托泊苷含量测定采用 254 nm 的检测波长,本研究中采用依托泊苷具有最大吸光度的 224 nm 作为检测波长,响应值相对较大,经过方法学验证,可以满足测定的要求。

经考察,进行粒径和 Zeta 电位测定时,乳剂的稀释倍数(稀释 1 000、2 000、5 000 倍)对测定结果无影响,但稀释倍数较小时,乳粒个数较多,整个测定所需平衡时间较长;稀释倍数过大时,整个测定溶液中所含乳粒个数不足以表征原乳液特征,

本研究选择稀释 2 000 倍进行粒径和 Zeta 电位测定。

在进行包封率测定时,考察了截留相对分子量分别为 5 000、10 000、30 000 的超滤离心管对测定的影响,结果显示 3 种超滤离心管测定结果较为接近,考虑超滤是为了将水相通过超滤膜而截留乳粒,故选择了 5 000 截留相对分子质量的超滤离心管进行包封率测定。

参考文献

- [1] Sinkule J A. Etoposide: a semisynthetic epipodophyllotoxin. chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, adverse effects and use as an antineoplastic agent [J]. *Pharmacotherapy*, 1984, 4(2): 61-73.
- [2] Lundberg B B, Mortimer B C, Redgrave T G. Submicron lipid emulsion containing amphipathic polyethylene glycol for as drug-carriers with prolonged circulation time [J]. *Int J Pharm*, 1996, 134(1/2): 119-127.
- [3] Shimada K, Miyagishima A, Sadzuka Y, et al. Determination of the thickness of the fixed aqueous layer around polyethyleneglycol-coated liposomes [J]. *J Drug Target*, 1995, 3(4): 283-289.
- [4] Venkateswarlu V, Manjunath K. Preparation, characterization and *in vitro* release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles [J]. *J Control Release*, 2004, 95(3): 627-638.